



اثر درمان طولانی مدت با هیدروژن سولفاید بر یادگیری حرکتی موش های پارکینسونی مدل ۶- هیدروکسی دیپامین در آزمون روتارود

Study of the effect of long- term treatment with hydrogen sulfide on motor learning in the 6-hydroxydopamine induced Parkinson's disease in the rat



علوم پزشکی
قزوین



منابع



اطلاعات
تفضیلی



مجری و
همکاران



صفحه نخست
سامانه

چاپ
صفحه

مجریان: ندا فرشاد , سیمین یزدانفر

کلمات کلیدی: دستگاه روتارود، ۶ هیدروکسی دیپامین، هیدروژن سولفاید، آزمون روتارود، پارکینسون

اطلاعات کلی طرح	
کد طرح	۱۴۰۰۳۳۰۰
عنوان فارسی طرح	اثر درمان طولانی مدت با هیدروژن سولفاید بر یادگیری حرکتی موش های پارکینسونی مدل ۶- هیدروکسی دیپامین در آزمون روتارود
عنوان لاتین طرح	Study of the effect of long- term treatment with hydrogen sulfide on motor learning in the 6-hydroxydopamine induced Parkinson's disease in the rat
کلمات کلیدی	دستگاه روتارود، ۶ هیدروکسی دیپامین، هیدروژن سولفاید، آزمون روتارود، پارکینسون
نوع طرح	
نوع مطالعه	
مدت اجراء - روز	۲۷۰

بیماری آلزایمر همچون پارکینسون نوعی بیماری نورودژنراتیو پیشرونده غیرقابل برگشت و تدریجی است که موجب اختلال حافظه، کاهش عملکردهای شناختی و توانایی های فکری، همچنین تغییرات رفتاری می گردد. هیدروژن سولفاید (H₂S) یک نوروترانسمیتر گازی درون زاد میباشد این ماده قلب را در برابر آسیب ایسکمیک محافظت کرده، تون عروقی و آزاد شدن انسولین را تنظیم می کند و تکثیر سلولی و آپوپتوز را تعدیل می نماید. همچنین اعمال فیزیولوژیک مهمی برای آن در CNS پیشنهاد شده است. این ماده از طریق فعال کردن گیرنده های NMDA در نورون ها سبب القاء تقویت طولانی مدت (LTP) می شود. نقشی برای این ضرورت انجام تحقیق

ماده در بیماری های نورودژنراتیو نیز گزارش شده است. نشان داده شده است که H_2S التهاب عصبی القاء شده بوسیله امیلوئید بتا را مهار می کندبا توجه به اثرات سودمند $NaHS$ در جهت محافظت عصبی، هدف از این مطالعه تجربی بررسی اثرات تزریق سیستمیک طولانی مدت $NaHS$ بر یادگیری حرکتی موش های پارکینسونی مدل ۶- هیدروکسی دپامین در آزمون روتارود می باشد.

هدف کلی	اثر درمان طولانی مدت با هیدروژن سولفاید بر یادگیری حرکتی موش های پارکینسونی مدل ۶- هیدروکسی دپامین در آزمون روتارود
خلاصه روش کار	دستگاه روتارود شامل یک چارچوپ پلاستیکی می باشد که در آن میله ای استوانه ای با قابلیت چرخش در سرعت های مختلف تعبیه شده اند که حیوان می تواند بر روی آن قدم بزند. در این آزمایش سرعت چرخش میله های استوانه ای به گونه ای تنظیم می شود که در یک فاصله زمانی ۹۰ ثانیه ای از ۵ دور بر ثانیه به ۴۰ دور بر ثانیه برسد. مدت زمانی که حیوان می تواند بر روی میله ها قدم بزند معیاری از توانایی اجرای حرکتی حیوان می باشد. این آزمون در ۳ روز پشت سرهم هر روز ۲ بار با فاصله زمانی حداقل ۱ ساعت (مجموعاً ۶ جلسه) انجام می شود. حیوانات سالم

اطلاعات مجری و همکاران

نام و نام خانوادگی	سمت در طرح	نوع همکاری	درجه تحصیلی	پست الکترونیک
ندا فرشاد	مجری	دکترای حرفه ای		neda206@gmail.com
سیمین یزدانفر	استاد راهنمای اول	دکترا - PHD		
محمد حسین اسماعیلی	استاد مشاور			esmail66@yahoo.com

اطلاعات تفصیلی

عنوان	متن
چکیده طرح	اثر درمان طولانی مدت با هیدروژن سولفاید بر یادگیری حرکتی موش های پارکینسونی مدل ۶- هیدروکسی دپامین در آزمون روتارود
پیشینه طرح	
فهرست کلی فصول	
هدف از اجرا	بررسی ارتباط سطح سرمی مالون دی الدئید با زمان ماندن در میله گردان در آزمون روتارد تعیین اثرات درمان طولانی مدت با هیدروژن سولفاید بر زمان ماندن در میله گردان در آزمون روتارد یادگیری حرکتی موش های پارکینسونی مدل ۶- هیدروکسی دپامین
فرضیات یا سوالات پژوهشی	۱- درمان طولانی مدت با هیدروژن سولفاید سبب بهبود یادگیری حرکتی در موش های دریافت کننده سم ۶-OHDA می شود. ۲- اثر هیدروژن سولفاید وابسته به دوز بوده و دوز $100 \mu\text{mol/kg, body weight}$ آن در بهبود یادگیری حرکتی موثرتر از دوز $50 \mu\text{mol/kg, body weight}$ آن می باشد. سوالات پژوهش: ۱- میزان اختلال در یادگیری حرکتی پس از تزریق سم ۶-OHDA نسبت به گروه کنترل چقدر است؟ ۲- میزان تغییر در یادگیری حرکتی در موش های پارکینسونی دریافت کننده نرمال سالین نسبت به گروه ۶-OHDA چقدر است؟ ۳- میزان تغییر در یادگیری حرکتی در موش های پارکینسونی دریافت کننده هیدروژن سولفاید نسبت به گروه ۶-OHDA چقدر است؟
چه موسساتی می توانند از نتایج طرح استفاده نمایند؟	

روش پژوهش و تکنیک های اجرایی

تجربی روش انجام این تحقیق شامل: ۱- جراحی استرئوتاکیک و تزریق سم ۶- هیدروکسی دیپامین ۲- درمان با هیدروژن سولفاید ۳- انجام آزمون روتارد ۱- جراحی استرئوتاکیک و تزریق سم ۶-OHDA: سم نوروتوکسیک ۶-۱۰-۱۵) OHDA میکروگرم با غلظت ۴ میکروگرم بر میکرولیتر حل شده در سالین حاوی ۲٪ درصد اسید اسکوربیک (به وسیله جراحی استرئوتاکیک به ناحیه دسته مغز جلویی میانی (MFB) نیمکره ی راست مغز موشها تزریق می گردد. در این جراحی ابتدا حیوانات را با استفاده از کتامین / زایلانین (۶/۶۰ mg/kg) بیهوش کرده و سپس در دستگاه استرئوتاکس قرار داده می شوند. در پوست سر یک برش طولی به اندازه ۲ سانتیمتر ایجاد شده و سطح استخوان اشکار می شود. سپس نقطه برگما مشخص شده و با استفاده از دستگاه استرئوتاکس و به کمک اطلس پاکسینوز و واتسون (۱۴)، محل مورد نظر تزریق نشانه گذاری می گردد. سپس سطح جمجمه با مته دندانپزشکی سوراخ گردیده و با استفاده از سرنگ هامیلتون تزریق سم ۶-OHDA به درون ناحیه مورد نظر به اهستگی صورت می گیرد. سم ۶-OHDA سبب تخریب نورون های دیپامینریک در جسم سیاه طرف تزریق شده و مدل پارکینسونی را ایجاد می نماید. ۲- درمان با هیدروژن سولفاید و یا سالین: تزریق بصورت درون صفاقی به گروه های مربوطه صورت خواهد گرفت. این تزریقات بصورت روزانه از ساعتی قبل از تزریق سم ۶-OHDA شروع خواهد شد و تا ۷ روز پس از آن ادامه خواهد یافت. ۳- آزمون روتارد: آزمون روتارد توانایی اجرای فعالیت های حرکتی (motor performance) را مورد ارزیابی قرار می دهد. با کمک این آزمون هماهنگی حرکات، حفظ تعادل و مهمتر توانایی یادگیری حرکتی در حیوانات مورد ارزیابی قرار می گیرد. از این رو این آزمون روتارد، آزمون معتبر و قابل اعتمادی در بررسی اختلالات بخش هایی از سیستم عصبی که درگیر کنترل حرکات می باشند (مانند مخچه و بازال گانگلیا) می باشد. روش اجرای آن اصولا برگرفته از روش معرفی شده توسط hammett al. می باشد (۱۵ و ۱۶). به طور خلاصه، دستگاه روتارد شامل یک چارچوب پلاستیکی می باشد که در آن میله ای استوانه ای با قابلیت چرخش در سرعت های مختلف تعبیه شده اند که حیوان می تواند بر روی آن قدم بزند. در این آزمایش سرعت چرخش میله های استوانه ای به گونه ای تنظیم می شود که در یک فاصله زمانی ۹۰ ثانیه ای از ۵ دور بر ثانیه به ۴۰ دور بر ثانیه برسد. مدت زمانی که حیوان می تواند بر روی میله ها قدم بزند معیاری از توانایی اجرای حرکتی حیوان می باشد. این آزمون در ۳ روز پشت سرهم هر روز ۲ بار با فاصله زمانی حداقل ۱ ساعت (مجموعا ۶ جلسه) انجام می شود. حیوانات سالم پس از چند جلسه به خوبی یاد می گیرند که بر روی میله ها در تمام مدت آزمون قدم زده، تعادل خود را حفظ کرده و از افتادن خود از دستگاه جلوگیری نمایند. از طرف دیگر حیوانات با اختلالات حرکتی مثلا حیوانات پارکینسونی و یا حیوانات مبتلا به الزایمر و یا آتاکسیا در انجام این آزمون ضعیف عمل کرده و اجرای آن را یاد نمی گیرند و یا دیر یاد می گیرند. اثرات درمان و یا پیش درمان های مختلف بر روی این بیماری ها در این آزمون اشکار خواهد شد. بعد از اتمام کار به کمک داروی بیهوشی کتامین در دوز بالا موش ها را کشته و جنازه آنها را در چاه مخصوص دفن حیوانات خواهیم انداخت. رفرنس نحوه پارکینسونی کردن موش ها، Liu KC, Li JY, Xie W, Li LB, Zhang J, Du CX, Zhang YM, Tan HH, Wang HS, Zhang L Activation and blockade of serotonin₆ receptors in the dorsal hippocampus enhance T maze and

hole-board performance in a unilateral ٦-
hydroxydopamine rat model of Parkinson's
disease. Brain Res. ٢٠١٦ Nov ١٦;١٦٥٠:١٨٤-١٩٥ Kimura
Y, Kimura H (٢٠٠٤) Hydrogen sulfide protects
neurons from oxidative stress. FASEB J
١٨(١٠):١١٦٥-١١٦٧. SeyedAsaadKarimi,
NargesHosseinmardia,,MahyarJanahmadi,
Mohammad Sayyah, RaziehHajisoltania.The
protective effect of hydrogen sulfide (H٢S) on
traumatic brain injury (TBI) induced memory
deficits in rats. Brain Research Bulletin ١٣٤ (٢٠١٧)
١٧٧-١٨٢

بیماری آلزایمر همچون پارکینسون نوعی بیماری نورودژنراتیو پیشرونده غیرقابل برگشت و تدریجی است که موجب اختلال حافظه، کاهش عملکردهای شناختی و توانایی های فکری، همچنین تغییرات رفتاری میگردد هیدروژن سولفاید (H٢S) یک نوروترانسمیتر گازی درون زاد میباشد این ماده قلب را در برابر آسیب ایسکمیک محافظت کرده، تون عروقی و آزاد شدن انسولین را تنظیم می کند و تکثیر سلولی و اپوپتوز را تعدیل می نماید. همچنین اعمال فیزیولوژیک مهمی برای آن در CNS پیشنهاد شده است. این ماده از طریق فعال کردن گیرنده های NMDA در نورون ها سبب القاء تقویت طولانی مدت (LTP) می شود. نقشی برای این ماده در بیماری های نورودژنراتیو نیز گزارش شده است. نشان داده شده است که H٢S التهاب عصبی القاء شده بوسیله امیلوئید بتا را مهار می کندبا توجه به اثرات سودمند NaHS در جهت محافظت عصبی، هدف از این مطالعه تجربی بررسی اثرات تزریق سیستمیک طولانی مدت NaHS بر یادگیری حرکتی موش های پارکینسونی مدل ٦- هیدروکسی دیپامین در آزمون روتارود می باشد.	دلایل ضرورت و توجیه انجام کار
	کلید واژه های فارسی بازنگاری شده
	فهرست منابع و مراجع علمی داخلی
	فهرست منابع و مراجع علمی خارجی
	خلاصه نتیجه اجرای طرح
	سابقه علمی طرح و پژوهش های انجام شده با ذکر مأخذ به ویژه در ایران
	خلاصه طرح طبق اهداف پیش بینی شده
	WhatRequirementsAreMet
	ملاحظات گروه
	ملاحظات ناظر
	HomeAddress
	WorkPlace
روش نمونه گیری انتخاب ١٢ سر موش نر بطور تصادفی در محدوده وزنی ٢٥٠ تا ٣٠٠ گرم برای هر گروه می باشد. حجم نمونه ها بر اساس ٥٩/٠ = P و با توجه به فرمول اماری و تحقیقات انجام شده در این زمینه در نظر گرفته شده است.	جامعه مورد مطالعه و روش نمونه گیری
بیماری آلزایمر همچون پارکینسون نوعی بیماری نورودژنراتیو پیشرونده غیرقابل برگشت و تدریجی است که موجب اختلال حافظه، کاهش عملکردهای شناختی و توانایی های فکری، همچنین تغییرات رفتاری میگردد (٢٠١). این بیماری با تجمع داخل و خارج سلولی پلاک های	بیان مسأله و بررسی متون

بتا آمیلوئیدی و پروتئین Tau هیپرفسفریله و از بین رفتن سیناپس ها و نورون ها شناخته می شود (۳ و ۴). آلزایمر نوع دیررس (اسپورادیک) که تقریباً ۹۰ تا ۹۵ درصد از موارد بیماری آلزایمر را تشکیل میدهد وراثت نقش چندانی نداشته و معمولاً در دهه ششم زندگی مشخص میشود. (۵).

هیدروژن سولفاید (H_2S) یک نوروترانسمیتر گازی درون زاد میباشد که در پستانداران بوسیله دوانزیم cystathionine b-synthase و cystathionine c-lyase تولید می شود. نشان داده شده است که این ماده قلب را در برابر آسیب ایسکمیک محافظت کرده، تون عروقی و آزاد شدن انسولین را تنظیم می کند و تکثیر سلولی و آپوپتوز را تعدیل می نماید (۶). همچنین اعمال فیزیولوژیک مهمی برای آن در CNS پیشنهاد شده است. این ماده از طریق فعال کردن گیرنده های NMDA در نورون ها سبب القاء تقویت طولانی مدت (LTP) شده، امواج کلسیمی در استروسیست ها ایجاد کرده و منجر به افزایش سطح کلسیم در میکروگلیا ها می شود. نقشی برای این ماده در بیماری های نورودژنراتیو نیز گزارش شده است. نشان داده شده است که H_2S التهاب عصبی القاء شده بوسیله لیپوپلی ساکاریدها و امیلوئید بتا را مهار می کند (۷ و ۸). کیمورا و کیمورا در سال ۲۰۰۴ گزارش دادند که گاز H_2S نورون ها را در برابر استرس اکسیداتیو محافظت می کند (۹). کامات و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که گاز H_2S نورودژنراسیون و اختلالات نوروواسکولار القاء شده بوسیله تجویز درون مغزی هموسیستئین در مغز موش های سوری را کاهش میدهد (۱۰).

در مطالعه ای دیگر لو و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که تزریق سیستمیک NaHS (دهنده H_2S) مرگ نورون های دپامینرژیک بر اثر تجویز سم ۱-methyl-4-phenylpyridinium (MPTP) را در موش های سوری کاهش می دهد. در همین ارتباط کیدا و همکاران ۲۰۱۱ گزارش کردند که تنفس سولفید هیدروژن از مرگ نورون های دپامینرژیک و اختلالات حرکتی بر اثر تجویز سم MPTP جلوگیری می کند (۱۱). در مطالعه ای که توسط Hu و همکاران در سال های ۲۰۱۰ و ۲۰۱۳ انجام گرفت مشخص گردید که تزریق سیستمیک NaHS و یا ترکیب ACS_{84} (ترکیبی مشتق از آل دوپا که سبب آزاد سازی هیدروژن سولفاید میشود) از ایجاد بیماری پارکینسون القاء شده توسط روتنون جلوگیری کرده و سلول های رده SH-SY5Y را در برابر آسیب ناشی از تزریق ۶-OHDA و استرس اکسیداتیو محافظت می کند. همچنین این محققین نشان دادند که تجویز این دو ماده به موش های پارکینسونی شده توسط سم ۶-OHDA سبب معکوس شدن اختلالات حرکتی و مرگ نورون های دپامینرژیک می شود (۷ و ۱۳ و ۱۲). با توجه به اثرات سودمند تزریق سیستمیک NaHS در جهت محافظت عصبی، هدف از این مطالعه تجربی بررسی اثرات تزریق سیستمیک طولانی مدت NaHS بر یادگیری حرکتی موش های پارکینسونی مدل ۶-هیدروکسی دپامین در آزمون روتارود می باشد



منابع

1. Rai S, Kamat PK, Nath C, Shukla R. A Study on Neuroinflammation and Nmda Receptor Function in Stz (Icv) Induced Memory Impaired Rats. J Neuroimmunol. 2013; 254(1-2): 1-9
2. Rafii MS, Aisen PS. Recent Developments in Alzheimer's Disease Therapeutics. BMC Med. 2009; 7: 7
3. Price DL, Sisodia SS. Mutant genes in familial Alzheimer's disease and transgenic models. Annu Rev Neurosci. 1998;21:479-505
4. Li M, Chen L, Lee DH, Yu LC, Zhang Y. The role of intracellular

- amyloid beta in Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol*. 2007 Oct;83(3):131-149. Epub 2007 Aug 19
- Williams RJ, Spencer JP. Flavonoids, Cognition, and Dementia: Molecular Actions, Mechanisms, and Potential Therapeutic Utility for Alzheimer Disease. *Free Radic Biol Med*. 2012; 52(1): 35-45
- Lu M, Zhao FF, Tang JJ, Su CJ, Fan Y, Ding JH, Bian JS, Hu G. The neuroprotection of hydrogen sulfide against MPTP-induced dopaminergic neuron degeneration involves uncoupling protein 2 rather than ATP-sensitive potassium channels. *Antioxid Redox Signal*. 2012 Sep 15;17(6):849-59. doi: 10.1089/ars.2011.4507. Epub 2012 Apr 20
- Hu LF, Lu M, Tiong CX, Dawe GS, Hu G, Bian JS. Neuroprotective effects of hydrogen sulfide on Parkinson's disease rat models. *Aging Cell*. 2010 Apr;9(2):135-46. doi: 10.1111/j.1474-9726.2009.00543.x. Epub 2009 Dec 23
- Xie L, Hu LF, Teo XQ, Tiong CX, Tazzari V, Sparatore A, Del Soldato P, Dawe GS, Bian JS. Therapeutic effect of hydrogen sulfide-releasing L-Dopa derivative ACS84 on 6-OHDA-induced Parkinson's disease rat model. *PLoS One*. 2013;8(4):e60200. doi: 10.1371/journal.pone.0060200. Epub 2013 Apr 3
- Kimura Y, Kimura H. Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress. *FASEB J*. 2004 Jul;18(10):1165-7. Epub 2004 May 20
- Kamat PK1, Kalani A, Givvimani S, Sathnur PB, Tyagi SC, Tyagi N. Hydrogen sulfide attenuates neurodegeneration and neurovascular dysfunction induced by intracerebral-administered homocysteine in mice. *Neuroscience*. 2013 Nov 12;252:302-19. doi: 10.1016/j.neuroscience.2013.07.051. Epub 2013 Jul 31
- Kida K1, Yamada M, Tokuda K, Marutani E, Kakinohana M, Kaneki M, Ichinose F. Inhaled hydrogen sulfide prevents neurodegeneration and movement disorder in a mouse model of Parkinson's disease. *Antioxid Redox Signal*. 2011 Jul 15;15(2):343-52. doi: 10.1089/ars.2010.3671. Epub 2011 Apr 5
- Fujita K, Yamafuji M, Nakabeppu Y, Noda M. Therapeutic approach to neurodegenerative diseases by medical gases: focusing on redox signaling and related antioxidant enzymes. *Oxid Med Cell Longev*. 2012; 2012:324256
- Zhou CF, Tang XQ. Hydrogen sulfide and nervous system regulation. *Chin Med J (Engl)*. 2011, 124 (21):3576-82. Review
- Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 6th ed. San Diego, CA: Academic Press; 2007
- Simons M, Schwarzler F, Lutjohann D, von Bergmann K, Beyreuther K, Dichgans J, Wormstall H, Hartmann T, Schulz JB: Treatment with simvastatin in normocholesterolemic patients with Alzheimer's disease: a 26-week randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Ann Neurol*. 2002; 52: 346-350
- Li XZ, Sui CY1, Chen Q, Zhuang YS, Zhang H, Zhou XP. The effects and mechanism of estrogen on rats with Parkinson's disease in different age groups. *Am J Transl Res*. 2016 Oct 15;8(10):4134-4146. eCollection 2016
- Xie L, Hu LF, Teo XQ, Tiong CX, Tazzari V, Sparatore A, Del Soldato P, Dawe GS, Bian JS. Therapeutic effect of hydrogen sulfide-releasing L-Dopa derivative ACS84 on 6-OHDA-induced Parkinson's disease rat model. *PLoS*

- One.2013;8(4):e60200.doi:10.1371/journal.pone.0060200.Epub 2013 Apr 3
- Hu LF, Lu M, Tiong CX, Dawe GS, Hu G, Bian JS. Neuroprotective effects of hydrogen sulfide on Parkinson's disease rat models. *Aging Cell*. 2010 Apr;9(2):135-46. doi:10.1111/j.1474-9726.2009.00543.x. Epub 2009 Dec 23
- Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 6th ed. San Diego, CA: Academic Press; 2007
- Liu KC, Li JY, Xie W, Li LB, Zhang J, Du CX, Zhang YM, Tan HH, Wang HS, Zhang L. Activation and blockade of serotonin₆ receptors in the dorsal hippocampus enhance T maze and hole-board performance in a unilateral 6-hydroxydopamine rat model of Parkinson's disease. *Brain Res*. 2016 Nov 1;1650:184-195
- Kimura Y, Kimura H (2004) Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress. *FASEB J* 18(10):1165–1167
- SeyedAsaadKarimi, NargesHosseinmardia, MahyarJanahmadi, Mohammad Sayyah, RaziehHajisoltania. The protective effect of hydrogen sulfide (H₂S) on traumatic brain injury (TBI) induced memory deficits in rats. *Brain Research Bulletin* 134 (2017) 177–182
-